IPC-TM-650

РУКОВОДСТВО ПО ИСПЫТАТЕЛЬНЫМ МЕТОДАМ

Номер **2.6.1**	
Предмет исследования **Метод испытания на плеснестойкость**	
Дата **05/04**	Редакция **F**
Исходящая рабочая группа **Подкомиссия по слоистым материалам/ препрегам**	

1 Общая информация

Данное испытание на плеснестойкость используется для определения устойчивости материалов к плесени, а также степени неблагоприятного воздействия грибка при условиях, способствующих его развитию: высокая влажность, теплая атмосфера, наличие неорганических солей.

2 Прилагаемая документация

Не имеется

3 Испытательный образец

Размер образца должен быть минимальным 50 x 50 мм с медной фольгой (если имеется), удаленной травлением, используя стандартную торговую практику.

4 Приборы и реактивы

4.1 Испытательная камера

Автоклав с возможностью температурного режима $30^0C \pm 1^0C$ и относительной влажностью 95% ± 2%, УФ источником (360нм) для последующей обработки. Необходимо создать условия для предотвращения попадания конденсата на испытательный образец. Должны быть три воздушных потока, циркулирующих вокруг испытательного образца, а контактная поверхность приспособлений, фиксирующих тестовый образец, должна быть минимальной.

4.2 Стерилизатор

4.3 Центрифуга

4.4 Измеритель кислотности

4.5 Пластинка для счета колоний в чашке Петри

4.6 Инкубатор

4.7 Посудомоечная машина

4.8 Чашки Петри

4.9 Фильтрорвальная бумага

4.10 Растворы разных сред

4.11 Микроорганизмы

4.12 Распылитель, 15.000 ± 3.000 спор

5 Процедура

5.1 Подготовка испытательных сред

5.1.1 Раствор минеральных солей

Приготовьте раствор из следующих компонентов:

Дигидроортофосфат калия (KH_2PO_4)..........0.7 г

Гидроортофосфат калия (K_2HPO_4). ....0.7 г

Гептагидрат сульфата магния ($MgSO_47H_2O$) ....0.7 г

Нитрат аммония (NH_4NO_3)..........1.0 г

Хлорид натрия (NaCl)..........0.005 г

Гептагидрат сульфата железа ($FeSO_47H_2O$)..........0.002 г

Гептагидрат сульфата цинка ($ZnSO_47H_2O$)..........0.002 г

Моногидрат сульфата марганца ($MnSO_4H_2O$)..........0.001 г

Дистиллированная вода..........1000 мл

Простерилизуйте раствор минеральных солей в автоклаве при 121^{0}С 20 минут. Добавляя 0.01 нормальный раствор NaOH, выровняйте pH раствора таким образом, чтобы после стерилизации уровень pH был между 6.0 и 6.5. Для запрашиваемого испытания приготовьте достаточное количество раствора солей.

5.1.2 Чистота реагентов

Химические вещества, классифицированные по степени реактивности, следует использовать во всех испытаниях. При отсутствии особых указаний все реагенты должны соответствовать характеристикам Комитета по аналитическим реагентам американского химического общества.

5.1.3 Чистота воды

При отсутствии особых указаний, под словом «вода» следует понимать дистиллированная вода или вода такой же чистоты.

5.1.4Приготовление суспензии из смешанных спор

Для испытания следует использовать следующие плесени:

смотрите в оригинале

5.1.5 Поместиет каждую культуру на соответствующую питательную среду, такую как картофельный агар с декстрозой. Однако, культуру хетомиум глобосум следует выращивать на полоске фильтровальной бумаги на поверхности агара на минеральных солях. (Агар на

минеральных солях идентичен раствору минеральных солей, но содержит помимо этого 15 г агара на литр).

5.1.6 Исходная культура может сохранять свою жизнеспособность не более четырех месяцев при $6^0C \pm 4^0C$, за это время следует вывести субкультуру и выбрать из нее новую исходную культуру.

5.1.7 Если возникают генетические или физиологические изменения, выводят новую культуру, как было описано выше. Субкультуры используют для приготовления новых исходных культур, либо споровую суспензию выращивают в инкубаторе 9-12 дней или более при $30^0C \pm 1^0C$.

5.1.8 Приготовьте споровую суспензию каждой из пяти плесеней. Для этого добавьте в одну субкультуру каждой плесени 10мл стерильного раствора, содержащего 0.05г/л нетоксичного ПАВ, такого как сульфосукцинат диоктила натрия или лаурилсульфат натрия.

5.1.9 Используйте стерильный платиновый или нехромированный затравочный провод для соскребания клеток поверхностного роста культуры испытываемого организма.

5.1.10 Влейте в колбу Эрленмейера с пробкой на 125мл некоторое количество раствора спор, который содержит 45мл стерильной воды и 50-75 твердых стеклянных шариков 5.0мм в диаметре.

5.1.11 Энергично встряхните колбу для выделения спор из плодового тела и разъединения скопления спор.

5.1.12 Профильтруйте споровую суспензию через 6мм слой стекловаты, содержащейся в стеклянной воронке в стерильной колбе.

5.1.13 Эта процедура способствует удалению крупных фрагментов мицелия и сгустков агара, которые могут служить препятствием при распылении спор.

5.1.14 Пропустите профильтрованную споровую суспензию через центрифугу и удалите всплывающую жидкость.

5.1.15 Ресуспендируйте остаток в 50мл стерилизованной воды и пропустите через центрифугу. Промойте споры, полученные от каждой плесени таким образом три раза.

5.1.16 Разбавьте окончательно промытый остаток стерилизованным раствором минеральных солей таким образом, чтобы полученная в результате споровая суспензия состояла из 1.000.000 ± 200.000 спор/мл, согласно данным счетной камеры.

5.1.17 Повторите данную процедуру для каждого тестируемого организма и смешайте равные объемы получившейся споровой суспензии для получения окончательной смеси споровой суспензии. Споровую суспензию можно готовить свежую каждый день или оставлять не более чем на семь дней при $6^0C \pm 4^0C$.

5.2 Жизнеспособность посевного материала контрольного образца

При каждодневном проведении группы испытаний поместите каждый из трех клочков стерилизованной фильтровальной бумаги, площадью 1 дюйм, на затвердевший агар на минеральной соли в отдельные чашки Петри. Произведите посев спор, распыляя споровую суспензию из стерилизованного пульверизатора до тех пор, пока не начнется слияние капель. Инкубационный период занимает семь дней при $30^0C \pm 1^0C$ и относительной влажности не менее

85%. На всех трех контрольных образцах фильтровальной бумаги должны наблюдать стремительный рост. Отсутствие роста требует повторения процедуры испытания.

5.3 Контрольные образцы

5.3.1 Помимо контроля за жизнеспособностью посевного материала, наряду с посевом на испытательные полоски, следует произвести посев на другие чувствительные субстраты, чтобы убедиться в том, что в инкубационной камере существуют все необходимые условия для роста плесени.

5.3.2 Контрольные образцы должны состоять из: полосок хлопкового полотна весом 8.25 унций и длиной 5 см, смоченные в растворе 10% глицерола, 0.1% дигидрофосфата калия, 0.1% нитрата аммония, 0.025% сульфата магния и 0.05% дрожжевого экстракта, причем, из раствора должна быть удалена лишняя жидкость.

5.3.3 Полоски сначала следует высушить, после чего производят на них посев и помещают в камеру.

5.4 Посев на испытательные и контрольные полоски

5.4.1 Зафиксируйте или подвесьте испытательную и контрольную полоски. До начала испытания на плеснестойкость в течение 72 часов не следует проводить очистку испытательной полоски. Применяя оборудование до начала и во время испытания, позаботьтесь о его чистоте.

5.4.2 Проведите предварительную подготовку камеры и ее содержимого в режиме $30^0C \pm 1^0C$ и относительной влажности $95 \pm 2\%$ в течение не менее четырех часов.

5.4.3 С помощью стерильного распылителя или пульверизатора произведите посев споровой суспензии смеси плесени на испытательную и контрольную полоски, распыляя смесь на полоски (при отсутствии герметичности) в виде мелкого тумана. При проведении испытания будьте внимательны, вся поверхность полосок должна быть обработана. Если не вся поверхность оказалась смоченной, продолжайте распыление до тех пор, пока не начнете наблюдать слияние капель. Сразу после этого полоски помещают в инкубатор.

5.5 Инкубационный этап

5.5.1 Инкубационные условия включают циклические изменения условий влажности и температуры. 20 часов при влажности $95 \pm 5\%$ и температуре $30^0C \pm 1^0C$, затем 4 часа при 100% влажности и $25^0C \pm 1^0C$.

5.5.2 По истечении семи дней проверьте рост на контрольной полоске, чтобы убедиться, что условия окружающей среды благоприятствуют росту плесени. Если в результате проверки было выявлено, что условия не благоприятные для роста, испытание следует провести заново.

5.5.3 Если контрольные полоски показали хороший результат, продолжайте испытание 28 дней с момента посева, либо как оговорено.

5.6 Оценка

5.6.1 Составьте отчет об образцах, которые были выбраны в качестве питательного субстрата для роста плесени.

5.6.2 О коррозии речь идет отдельно от результатов испытания на плеснестойкость.

6 Примечания

6.1 Предоставленные микроорганизмы

адрес смотрите в оригинале

6.2 Дополнительные адреса приобретения микроорганизмов

смотрите в оригинале

6.3 После завершения испытания и оценки результатов следует провести дезинфекцию всей камеры УФ лучами (360нм) как минимум в течение двух часов, или распылить раствор 1:750 хлорид zephiran (одна часть хлорид zephiran на 750 частей дистиллированной воды).

6.4 Безопасность

Ознакомьтесь со всеми мерами предосторожности по MSDS при работе с химическими веществами, предусмотренными в данном испытании.



ASSOCIATION CONNECTING ELECTRONICS INDUSTRIES ®

2215 Sanders Road
Northbrook, IL 60062-6135

IPC-TM-650 TEST METHODS MANUAL

Number	
2.6.1	
Subject	
Fungus Resistance Printed Wiring Materials	
Date	Revision
05/04	**F**
Originating Task Group	
Laminate/Prepreg Materials Subcommittee, 3-11	

1 Scope The fungus resistance test is used to determine the resistance of materials to fungi and to determine if such material is adversely affected by fungi under conditions favorable for their development, namely high humidity, warm atmosphere, and presence of inorganic salts.

2 Applicable Documents None

3 Test Specimen Specimens must be a minimum size of 50 mm x 50 mm [1.97 in x 1.97 in] with copper foil (if applicable) removed by etching using standard commercial practices.

4 Apparatus and Reagents

4.1 Test Chamber The autoclave shall be capable of maintaining 30 °C ± 1 °C [86 °F ± 2 °F] and 95% ± 2% relative humidity and an ultra violet (360 nm) source for subsequent decontamination. Provisions shall be made to prevent condensation from dripping on the test item. There shall be free circulation of air around the test item and the contact area of fixtures supporting the test item shall be kept to a minimum.

4.2 Sterilizer

4.3 Centrifuge

4.4 pH Meter

4.5 Colony Counter

4.6 Incubator

4.7 Dishwasher

4.8 Petri Dishes

4.9 Filter Paper

4.10 Media Solutions

4.11 Microorganisms

4.12 Atomizer, 15,000 ± 3000 spores

5 Procedures

5.1 Preparation of Test Media

5.1.1 Mineral-Salts Solution

Prepare the solution to contain the following:

Potassium dihydrogen orthophosphate(KH_2PO_4) 0.7g
Potassium monohydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)......0.7g
Magnesium sulfate heptahydrate (KH_2PO_4)....................0.7g
Ammonium Nitrate ((NH_4NO_3) 1.0g
Sodium chloride (NaCl)..0.005g
Ferrous sulfate heptahydrate ($FeSo_4$ $7H_2O$) 0.002g
Zinc sulfate heptahydrate ($ZnSO_47H_2O$)........................0.002g
Manganous sulfate monohydrate ($MnSO_4H_2O$) 0.001g
Distilled water ....1000 ml

Sterilize the mineral salts solution by autoclaving at 121 °C [250 °F] for 20 minutes. Adjust the pH of the solution by the addition of 0.01 normal solution of NaOH so that after sterilization the pH is between 6.0 and 6.5. Prepare sufficient salts solution for the required tests.

5.1.2 Purity of Reagents Reagent grade chemicals shall be used in all tests. Unless otherwise specified, it is intended that all reagents shall conform to the specification of the Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society, where such specifications are available.

5.1.3 Purity of Water Unless otherwise specified, references to water shall be understood to mean distilled water or water of equal purity.

5.1.4 Preparation of Mixed Spore Suspension

The following test fungi shall be used:

Description..ATCC
Aspergillus niger..9642
Chaetomium globosum 6205
Gliocladium virans 9645
Aureobasidium pullulans.......................................9348
Penicillium funiculosum..9644

5.1.5 Maintain cultures of these fungi separately on an appropriate medium such as potato dextrose agar. However, the culture of chaetomium globosum shall be cultured on

strips of filter paper on the surface of mineral salts agar. (Mineral salts agar is identical to mineral salts solution, but contains in addition 15.0 g of agar per liter.)

5.1.6 The stock cultures may be kept for not more than four months at 6 °C ± 4 °C [43 °F ± 7 °F] at which time subcultures shall be made and new stocks shall be selected from the subcultures.

5.1.7 If genetic or physiological changes occur, obtain new cultures as specified above. Subcultures used for preparing new stock cultures or the spore suspension shall be incubated at 30 °C ± 1 °C [86 °F ± 2 °F] for nine to twelve days or longer.

5.1.8 Prepare a spore suspension of each of the five fungi by pouring into one subculture of each fungus, a 10-ml portion of a sterile solution containing 0.05 g per liter of a nontoxic wetting agent such as sodium dioctyl sulfosuccinate or sodium lauryl sulfate.

5.1.9 Use a sterile platinum or nichrome inoculating wire to scrape gently the surface growth from the culture of the test organism.

5.1.10 Pour the spore charge into a sterile 125-ml glass-stoppered Erlenmeyer flask containing 45 ml of sterile water and 50 to 75 solid glass beads, 5.0 mm [0.197 in] in diameter.

5.1.11 Shake the flask vigorously to liberate the spores from the fruiting bodies and to break the spore clumps.

5.1.12 Filter the dispersed fungal spore suspension, through a 6 mm layer of glass wool contained in a glass funnel, into a sterile flask.

5.1.13 This process should remove large mycelial fragments and clumps of agar which could interfere with the spraying process.

5.1.14 Centrifuge the filtered spore suspension aseptically and discard the supernatant liquid.

5.1.15 Resuspend the residue in 50 ml of sterile water and centrifuge. Wash the spores obtained from each of the fungi in this manner three times.

5.1.16 Dilute the final washed residue with sterile mineral-salts solution in such a manner that the resultant spore suspension shall contain 1,000,000 ± 200,000 spores per ml as determined with a counting chamber.

5.1.17 Repeat this operation for each organism used in the test and blend equal volumes of the resultant spore suspension to obtain the final mixed spore suspension. The spore suspension may be prepared fresh each day or may be held at 6 °C ± 4 °C [43 °F ± 7 °F] for not more than seven days.

5.2 Viability of Inoculum Control With each daily group of tests, place each of three pieces of sterilized filter paper, 1 inch square, on hardened mineral-salts agar in separate Petri dishes. Inoculate these with the spore suspension by spraying the suspension from a sterilized atomizer until initiation of droplet coalescence. Incubate these at 30 °C ± 1 °C [86 °F ± 2 °F] at a relative humidity not less than 85% and examine them after seven days of incubation. There shall be copious growth on all three of the filter paper control specimens. Absence of such growth requires repetition of the test.

5.3 Control Items

5.3.1 In addition to the viability of inoculum control, known susceptible substrates shall be inoculated along with the test item to insure that proper conditions are present in the incubation chamber to promote fungus growth.

5.3.2 The control items shall consist of cotton duck 8.25-ounce strips that are 5 cm, that have been dipped into a solution containing 10% glycerol, 0.1% potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4), 0.1% ammonium nitrate (NH_4NO_3), 0.025% magnesium sulfate ($MgSO_4$ $7H_2O$), and 0.05% yeast extract (pH 5.3), and from which the excess liquid has been removed.

5.3.3 The strips should be hung to air dry before being inoculated and placed into the chamber.

5.4 Inoculation of Test and Control Item

5.4.1 Mount the test and control items on suitable fixtures or suspend from hangers. No cleaning of the test item shall be permitted for 72 hours prior to the beginning of the fungus test. Equipment handling prior to and during the fungus test shall be accomplished without contamination of the equipment.

5.4.2 Precondition the chamber and its contents at: 30 °C ± 1 °C [86 °F ± 2 °F] and 95 ± 2% relative humidity for at least four hours.

5.4.3 Inoculate the test and control items with the mixed fungus spore suspension (3.1.2) by spraying it on and into the test and control items (if not hermetically sealed) in the form of a fine mist from a previously sterilized atomizer or nebulizer. In spraying the test and control items, care should be taken to spray all surfaces which are exposed during use or maintenance. If the surfaces are nonwetting, spray until initiation of droplet coalescence. Incubation is to be started immediately following the inoculation.

5.5 Test Incubation of Test Items

5.5.1 Incubate test items under cyclic temperature and humidity conditions to include 20 hours of relative humidity at 95% ± 5% at an air temperature of 30 °C ± 1 °C [86 °F ± 2 °F] followed by four hours of 100% relative humidity at 25 °C ± 1 °C [77 °F ± 2 °F].

5.5.2 After seven days, inspect the growth on the control items to be assured that the environmental conditions are suitable for growth. If inspection reveals that the environmental conditions are unsuitable for growth, the entire test shall be repeated.

5.5.3 If the control items show satisfactory fungus growth, continue the test for a period of 28 days from the time of inoculation, or as specified.

5.6 Evaluation

5.6.1 Report those specimens which were found to be nutrient to fungus growth.

5.6.2 Corrosion should be noted separately from the fungus test results.

6 *Notes*

6.1 Source for Microorganisms

6.1.1 ATC
P.O. Box 1549
Manassas, VA 20108
(703) 365-2700
www.atcc.org

6.2 Secondary Sources for Microorganisms

6.2.1 Pioneering Research Division
U.S. Army Natick
Laboratories
Natick, Massachusetts 01760

6.2.2 USDA, North University
North University St.
Peoria, IL 61604
Contact: Dr. Stephen Peterson
(309) 685-4011

6.3 After evaluation, the materials and the test chamber must be decontaminated by exposure on all sides to ultraviolet rays (360 nm) for a minimum of two hours, or sprayed with a solution of 1:750 zephiran chloride solution. (One part zephiran chloride to 750 parts distilled water).

6.4 Safety Observe all appropriate precautions on MSDS for chemicals involved in this test method.